Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. Selter.

„Experimentelle Untersuchungen über die wachstumshemmende Wirkung menschlicher und tierischer Blutseren Tuberkelbazillen gegenüber."

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des zahnärtzlichen Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn.

Vorgelegt am 23. Juni 1939

von

Heinrich Biethahn
Zahnarzt aus Iserlohn. i. W.

Bonn 1939.
Anton Brand, Bonn.

Gedruckt
mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Bonn.

Referent: Prof. Dr. Selter
Korreferent: Prof. Dr. Tiemann.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Seit man durch experimentelle Forschung und klinische Beobachtung weiß (Koch, Behring, Römer, Calmette, Selter Hamburger u. a.), daß sich im tuberkulösen Organismus eine Infektionsimmunität entwickelt, ist man bemüht, ihren Wirkungsmechanismus zu ergründen. Dabei sind die Tuberkulose forscher im Laufe der Jahre zu verschiedenen Ansichten über die Art der Immunitätsentwicklung gekommen.

Auf der einen Seite vermutet man eine humorale Bedingtheit, während man auf der anderen einen zellulären Charakter annimmt.

Die Verfechter der humoralen Theorie stützen sich dabei auf den Nachweis bakterizider Kräfte in den verschiedenen Körperflüßigkeiten.

Schon bald nach der Entdeckung des Tuberkelbazillus wurden zahlreiche Versuche in dieser Richtung ausgeführt. Im Vordergrund des Interesses standen vor allem immer die Untersuchungen des Blutes und seiner Bestandteile.

Es galt nicht nur die Theorie der Infektionsimmunität zu klären, sondern auch noch Hilfsmittel zu suchen, die bei der klinischen Bekämpfung der Tuberkulose in diagnostischer und prognostischer Hinsicht von Bedeutung waren.

Aus dem Verhalten der bakteriziden Kräfte des Serums haben verschiedene Forscher bereits versucht, Schlüsse über Verlauf und Ausbreitungscharakter der Tuberkulose zu ziehen.

Durch die Untersuchungen von Hübschmann, Wurm, Henke, Koppenhöfer, Pagel, Pfaff, Herold u. a., die nachwiesen, daß die Tuberkulösen Herde nicht gefäßlos sind, erhalten diese Fragen ihre besondere Bedeutung noch dadurch, daß man aus ihnen vielleicht eine Methode zur therapeutischen Behandlung der Tuberkulose gewinnen könnte.

Mit dem Nachweis der bakteriziden Kraft von traumatischen und tuberkulösen Gelenkergüssen befaßt sich Angelesia(5).

Er fand, daß sich im Gegensatz zu den traumatischen Ergüssen bei tuberkulösen eine wachstumshemmende Wirkung zeigt.

Anhand von Versuchen mit Normalserum von Mensch, Pferd, Rind, Hund, Katze, Kaninchen und Meerschweinchen stellt Hedvall (6) fest, daß in diesen Seren wachstumshemmende Stoffe vorhanden sind. Ein Vergleich zwischen Normal- und Immun-seren ergibt keine Unterschiede in der bakteriziden Fähigkeit.

Unter den einschlägigen Arbeiten befindet sich eine eingehende Abhandlung von Meißner (1), welche sich mit der entwicklungshemmenden Eigenschaft des Blutes auf Tuberkelbazillen befaßt. Zur Untersuchung bedient sich die Autorin der Wright'schen Kapillarmethode, bei welcher zur Züchtung von Tuberkelbazillen ein Blutfaden verwendet wird, in welchem das Wachstum der Erreger unter dem Mikroskop festgestellt werden kann. Meißner ist der Ansicht, daß diese Methode eine ziemliche Anpassung an die Verhältnisse im tierischen Körper möglich macht. Die Versuchsanordnung ist jedoch nur für qualitative Bestimmung zu verwenden.

Zur quantitativen Untersuchung wird die Wright'sche Methode so abgewandelt, daß der ganze Blutfaden mit dem Sauerstoff der Luft in Verbindung kommen kann, was bei der Original-Wrigt'schen Methode nicht der Fall ist.

Zur Untersuchung gelangt das Gesamtblut von normalen und tuberkulösen Menschen und Tieren, sowie von skorbutkranken Meerscheinchen. Die Verfasserin kommt zu dem Ergebnis, daß das Blut von tuberkulösen Kaninchen und Meerschweinchen stärkere Hemmungssubstanzen enthält, als das von normalen Tieren der gleichen Gattung. Das Blut von skorbutkranken Meerschweinchen ist jedoch geringer hemmend als bei normalen.

Es wird gleichzeitig festgestellt, daß in den in sich geschlossenen Versuchsreihen individuelle Schwankungen vorhanden sind, welche beim Menschenblut besonders in Erschei-

nung treten. Auch hat der gleiche Bazillenstamm an verschiedenen Tagen eine verschiedene Wachstumsintensität. Selbst bei Tieren gleicher Gattung zeigt das Blut mit demselben Stamm an mehreren auseinander liegenden Tagen eine unterschiedliche Bakterizidie.

Wie Meißner angibt hat auch Wright festgestellt, daß im Serum Tuberkelbazillen nicht wachsen. Wright vermutet daher, daß das Serum Träger wachstumshemmender Stoffe sei. Er konnte weiterhin feststellen, daß polymorphkernige Leukocyten eine stark hemmende Wirkung auf das Tuberkelbazillenwachstum haben. Im Plasma dagegen soll die Wachstumshemmung „weitgehend eingeschränkt sein", soweit es nicht mit Leukocyten angereichert ist. Er räumt deshalb den Wachstumsbedingungen im Blut eiue Mittelstellung zwischen den günstigen im Plasma (leukocytenfrei) und den ungünstigen im Serum ein.

Unter Voraussetzung der Bakterizidie des Blutes auf Tuberkelbazillen findet Yabushita (4) bei Versuchen mit dem Blut avitaminotisch ernährter Ratten, daß dieser Ernährungsmangel die wachstumshemmende Wirkung vermindert. Dies geschieht in erster Linie bei Vitamin A- Mangel, dann folgen die Vitamine B, D und C in der Reihenfolge der Aufzählung. Bei Ratten, denen man die Nahrung entzog, ließ die bakterizide Wirkung erst im letzten Hungerstadium nach.

Sonak (2) stellt eine stark hemmende Wirkung im Blute tuberkulöser, pirquetpositiver Kinder fest. Dagegen findet er eine Wachstumsbegünstigung bei 2-pirquetnegativen und mehreren maserkranken Kindern.

Auch Sonak bedient sich der Wright'schen Untersuchungsmethode.

In mehreren Abhandlungen berichten Courmont, Paul und Gardère über die Resultate bei Untersuchungen der Seren tuberkulöser Menschen und gesunder und tuberkulöser Tiere.

Bei ihren Versuchen benutzten sie flüssige Nährböden und einen homogenwachsenden Humanstamm des Koch'schen Bazillus.

Eine ganze Reihe dieser Untersuchungen werden mit Menschenseren ausgeführt. Dabei ergibt sich, daß das Serum gesunder Menschen eine gewisse Bakterizidie erkennen läßt. Dagegen finden sich bei der Prüfung der Seren Tuberkulöser sehr große Unterschiede.

Die genannten Forscher haben nun festgestellt, daß bei Tuberkulosekranken, deren Blutserum geringe oder gar keine Bakterizidie aufweist, die Mortalität bedeutend höher ist als bei den Kranken, deren Hemmungskraft des Serums über der von Gesunden liegt.

So berichten die Verfasser, daß die Sterblichkeit bei Patienten mit gesteigerter Hemmung 12,5 % betrug, bei normaler Hemmung, d. h. der gleichen wie beim Gesunden 30 % und bei verminderter oder fehlender Bakterizidie 75 % (3). Bei vergleichenden Versuchen mit dem Serum gesunder Tiere zeigte das Pferdeserum 2 bis 4fach gesteigerte Bakterizidie, während beim Meerschweinchen die Verhältnisse wie beim gesunden Menschen bestanden.

Auf Grund dieser Befunde soll Bakterizidiebestimmungen ein prognostischer Wert beizumessen sein.

In einer späteren Arbeit kommen die Verfasser auf diese prognostische Auswertbarkeit zurück (7). Unter Beibehaltung ihrer früheren Methode sind auch die Ergebnisse, welche sich auf 40 neue Fälle beziehen, ungefähr gleichartig. Von 11 Kranken, deren Seren ein schwach bakterizides Vermögen aufwiesen, starben 5 (45 %), während von den übrigen Fällen nur 13 % starben. Die Seren der letzteren wiesen eine wesentlich stärkere Bakterizidie auf.

Unter Hinweis auf die Versuchsreihen des Jahres 1929 empfehlen die Forscher die Bakterizidiebestimmungen regelmäßig durchzuführen.

Bei anderer Gelegenheit (8) werden die bakteriziden und agglutinierenden Kräfte des Serums verschiedener Tiere geprüft. Die bakterizide Beeinflussung des Tuberkelbazillus durch die Seren gesunder Pferde, Rinder und Hunde wird als sehr

groß bezeichnet, während die Wirkung der Seren von Menschen, Kaninchen und Meerschweinchen wesentlich schwächer sei.

Es wurden weitere Untersuchungeu angestellt, bei denen statt des Serums das Produkt tuberkulöser Pleuraergüsse verwendet wurde. Das Ergebnis war eine Hemmung, falls die Bazillen in nicht zu großer Zahl zugesetzt wurden.

In einer seiner Arbeiten weist Kuteischikow (9) einleitend auf die ersten Versuche verschiedener Forscher hin, welche sich bemühten, Seren zu gewinnen, die zur Heilung der Tuberkulose Verwendung finden könnten. Er erwähnt die Versuche Pichet's und Hericourt's, die Seren für Tuberkulose wenig empfänglicher Tiere zu Heilzwecken zu verwenden und weist auf die Bemühung vieler anderer Forscher hin, welche Seren verschiedener mit Tuberkelbazillen vorbehandelter Tiere zu therapeutischen Zwechen vorgeschlagen haben. Er gibt die Zahl der auf diese Weise präparierten und angegebenen Seren mit mehr als 30 an. Die dabei angewandten Immunisierungsmethoden sind — der jeweiligen Ansicht über die Tuberkulose-Immunität entsprechend — verschieden gewesen. So sind Immunisierungsversuche mit Tuberkulinen, verschiedenen Derivaten des Tuberkelbazillus, lebenden und abgetöteten Bazillenleibern unter Verwendung virulenter und avirulenter Stämme des Bazillus Koch vorgenommen worden. Auch kombinierte Immunisierungsmethoden seien zur Anwendung gelangt. Trotz gut ausgefallener Tierversuche habe jedoch keines der Seren als Heilmittel Anerkennung gefunden.

Zu eigenen Versuchen verwendet Kuteischikow ein von Shiga angegebenes Verfahren, welches darin besteht, daß Pferde mit durch Trypaflavin in der Virulenz gehemmten humanen Tuberkelbazillenstämmen beimpft und nach 8 Monaten entblutet werden.

Das so gewonnene Serum gelangt in verschiedenen Versuchsreihen an Meerschweinchen zur Verwendung.

Die Tiere werden infiziert und nach einiger Zeit teils mit dem oben erwähnten Serum, teilt mit normalem Pferde-

serum behandelt. Einige Kontrolltiere bleiben unbehandelt.

Aus diesen Versuchen gewinnt der Verfasser die Überzeugung, daß das von ihm gewonnene Immunserum bei der experimentellen Meerschweinchentuberkulose „unzweifelhaft therapeutische Eigenschaften besitzt". Er macht jedoch die Einschränkung, daß bei Impfung der Tiere mit sehr großen Mengen von Tuberkelbazillen von einer Heilung bzw. einem Aufhalten der Tuberkulose keine Rede sein kann.

Bei Anwendung von Normalseren kann Kuteischikow keinerlei Wirkung auf das Fortschreiten der Tuberkulose bei seinen Tieren feststellen.

Um eine Erklärung für die Serumwirkung zu finden, hat der Verfasser weitere Untersuchungen angestellt. Er geht von der Frage aus, ob es sich um eine Proteintherapie, Antigentherapie oder spezifische Serumtherapie handelt.

Eine Proteinwirkung glaubt K. nur in ganz beschränktem Maße zugeben zu können, da die mit Normalserum behandelten Tiere zwar länger lebten als die Kontrolltiere, jedoch viel eher starben als die spezifisch behandelten.

Die Anwesenheit von lebendem Virus in seinem Serum lehnt der Autor ab, da trotz langer Beobachtungszeit die mit großen Mengen von Serum behandelten Tiere keine Veränderungen zeigten. Selbst die histologische Untersuchung blieb ohne Befund.

Auch die Prüfung seines Serums auf lösliche Derivate des Koch-Bazillus fiel negativ aus. Er glaubt daher, annehmen zu können, daß sein Serum entweder tuberkulinfrei oder dieses nur in biologisch nicht feststellbarer Menge vorhanden sei.

Bei Anwendung der intracutanen Methode an tuberkulosekranken Menschen und Tieren war eine Neutralisation des Tuberkulins durch das präparierte Serum nicht nachweisbar.

Dagegen konnte bei den mit Serum gespritzten Tieren eine intensivere und früher einsetzende Phagocytose beobachtet werden.

Auch Pagel (10) kommt bei seinen Experimenten zu der Feststellung, daß dem Blutserum eine mehr oder weniger starke bakterizide Kraft innewohnt. Die Bakterizidie wurde von ihm danach bestimmt, ob die Tuberkelbazillen in ihren Nährböden mehr oder weniger schnell oder auch garnicht wachsen. Zu diesem Zwecke wurden die Nährböden in gewissen Zeitabständen mit Kontrollröhrchen verglichen. Die Zeit bis zum ersten makroskopischen Erkennen der entstehenden Kulturen war dabei ausschlaggebend.

Seine Versuche stellte der Verfasser wie folgt an:

Steril entnommenes Serum wird in Glyzerin-Pepton-Bouillon gelöst und zwar im Verhältnis 1 : 2, 1 : 4 und 1 : 8. Diesen Mischungen wird eine Suspension von 0,2 ccm einer guten, mäßig schnell wachsenden Tuberkelbazillenkultur zugesetzt. In den Kontrollröhrchen wird der Glyzerinbouillon die gleiche Menge der erwähnten Suspension beigefügt. Unter bestimmten Bedingungen wird den Kontrollröhrchen allerdings ebenfalls ein Serum zugesetzt.

War Pagel auf Grund früherer Versuche der Meinung, daß Grad und Ausdehnung der Erkrankung in der Lunge äquivalent der Bakterizidie des Serums seien, bekehrt er sich jetzt zu der Ansicht, daß der Ausbreitungscharakter und die Entwicklungsform für die hemmende Wirkung des Serums entscheidend sind.

Zu anderen Ergebnissen als die bisher erwähnten Forscher kommt Kirchner (11).

In seiner Versuchstechnik lehnt er sich an die Methode von Courmont und Gardère an.

Die Tuberkelbazillen werden in das Serum eingebracht und ihr Wachstum in diesem Medium fortlaufend beobachtet. Die Prüfung erfolgt mit verdünnten und unverdünnten Seren, wobei gleichzeitig Feststellungen über das günstige Verdünnungsverhältnis gemacht werden.

Die Versuche sind nach qualitativen und quantitativen Gesichtspunkten ausgeführt.

Zur Beimpfung werden 5 humane und 1 boviner Tuberkelbazillenstamm gewählt, zu den quantitativen Experimenten nur 1 humaner und 1 boviner.

Die Substanz der Aufschwemmung stammt aus Tiefenkulturen, welche z. T. schon ziemlich alt sind. Zur Herstellung der Aufschwemmung entnimmt der Verfasser mit einer Glaskapillare vom Boden der Tiefenkultur eine kleine Menge Kulturmaterial, schüttelt 10 Min. mit Glasperlen kräftig durch und setzt 2 ccm Verdünnungsflüssigeit zu. Bei den qualitativen Versuchen wird 1 Tropfen dieser Flüssigkeit je Röhrchen zugesetzt. Kirchner schätzt die pro Röhrchen verwendeten Keime auf 50000 bis 200000.

Die Abimpfungen erfolgen in einem Zeitraum von 4—28 Wochen.

Da durch den Zerfall des Serums das Bakterienwachstum nicht mehr einwandfrei zu beurteilen ist, wird von der Mehrzahl der Röhrchen eine Abimpfung auf Eiernährböden vorgenommen und das Wachstum auf diesen weiterhin kontrolliert.

Zum Vergleich dienen Kontrollröhrchen, welche nur Zusatzflüssigkeit enthalten.

Bei den quantitativen Untersuchungen werden Versuchsreihen mit ansteigenden Mengen von Bazillenzusätzen gemacht. Durch mikroskopische Auszählung der in einer kleinen Menge Aufschwemmung enthaltenen Keime läßt sich die zuzusetzende Bazillenzahl annähernd bestimmen. Zusammenfassend stellt Kirchner fest, daß die Seren nicht bakterizid wirken. Er kommt vielmehr zu der Annahme, daß die Verschiedenartigkeit des Wachstums der Tuberkelbazillen in verdünnten und unverdünnten Seren auf die durch den Verdünnungsgrad verschieden gute Eignung dieser Seren als Nährboden zurückzuführen ist.

Wolf (12) glaubt, daß die wachstumshemmende Wirkung der Seren auf den p^H-Faktor zurückgeführt werden kann. Seine Untersuchungen ergeben, daß immer da, wo das Wachstum

von Bakterien gehemmt wird, der p^H-Wert über 8 liegt. Befindet sich dieser unter 8, so geht das Wachstum ungehindert weiter. Wolf stellt weiter fest, daß Seren, die an der Luft stehen ihren p^H-Wert ändern und er führt diese Veränderung auf spontane Glykolyse, Glykosespaltung durch Bakterien, Kohlensäureverlust des Serums und Ammoniakbildung zurück.

Nagel und Fenkner haben mit einer Suspensionsmethode, die auch später bei meinen Untersuchungen zur Anwendung kommt, das Blut von normalen immunisierten und tuberkulösen Meerschweinchen auf ihre bakterizide Fähigkeit verschiedenen Tuberkelbazillenstämmen gegenüber untersucht.

Auch sie konnten bei der von ihnen durchgeführten Versuchsanordnung wachstumshemmende Stoffe im Serum der verschiedenen Tiergruppen nicht nachweisen.

Diesen Feststellungen entspricht auch ein Bericht über gleichsinnige Untersuchungen am Robert-Koch-Institut. (13)

Dort konnte ebenfalls bei Prüfung der Seren verschiedener Tiergattungen in einer Konzentration von 50 von 100 eine Bakterizidie nicht einwandfrei nachgewiesen werden. In Tiefenkulturen wurde die Wirkung von Bakterienkulturfiltraten und von Organextrakten auf Tuberkelbazillen nachgeprüft. Es konnte beobachtet werden, daß, wenn wirklich eine Hemmung festzustellen war, diese aufs engste mit dem p^H-Wert des Nährbodens in Zusammenhang stand. Bei der Fertigstellung dieser Arbeit standen mir leider die Originalarbeiten noch nicht zur Verfügung.

Wie aus der angeführten Literatur hervorgeht, haben die Arbeiten der verschiedenen Forscher zu sehr unterschiedlichen ja sogar gegensätzlichen Ergebnissen geführt. Diese Differenzen sind sehr wahrscheinlich auf die Verschiedeuartigkeit der angewandten Untersuchungsmethoden zurückzuführen. Von außerordentlicher Bedeutung erscheint die Beachtung der Veränderlichkeit der Nährböden und der dadurch bedingten Schwankungen des p^H-Wertes der Nährsubstanz, wie das ja auch schon von anderer Seite betont wurde. Diese verschiedenen

Untersuchungsergebnisse gaben mir Veranlassung diesen Fragenkomplex noch einmal nachzuprüfen. Zur Durchführung der Versuche habe ich die bereits erwähnte Suspensionsmethode gewählt, die bereits vorher zu analogen Untersuchungen hier ausprobiert war. Veränderungen des Nährbodens wurden durch diese Methode weitgehendst ausgeschaltet.

Eigene Versuche.

Zur Untersuchung gelangten verschiedene Seren von gesunden und tuberkulösen Menschen und Tieren. Die Seren wurden alle frisch verarbeitet; sie stammt entweder von Versuchstieren des Hygienischen Institutes oder von geschlachteten Tieren aus dem Bonner Schlachthof. Die menschlichen Seren wurden uns freundlicherweise von der Chirurgischen und Medizinischen Klinik der Universität Bonn zur Verfügung gestellt.

Es wurden untersucht:

2	normale	Hammel-Seren
3	„	Kalb- „
3	„	Schweine- „
2	„	Rinder- „
1	„	Pferde- „
4	„	Menschen- „
6	tuberk.	Meerschweinchen-Seren (Experimentelle Tuberkulose)
1	„	Kaninchen-Serum (Experimentelle Tuberkulose)
1	„	Menschen-Serum (geschlossene Lungen-Tuberkulose)
4	„	Menschen-Seren (Knochentuberkulose)

Die Seren enthielten z. T. komplementbindende Antikörper die nach der Methode von Witebsky-Kuhn-Klingenstein nachgewiesen wurden. Mit den 27 verschiedenen Seren wurden insgesamt 48 Versuchsreihen angesetzt, die in beigefügten Tabellen aufgeführt sind. Die Untersuchungen wurden so durchgeführt, daß jeweils verschiedene Mengen des frischen,

steril entnommenen Serums auf eine bestimmte Bazillenaufschwemmung einwirken konnte.

In 4 Versuchsgruppen untersuchte ich die Einwirkung von:

1. 1 ccm Serum auf 1 ccm Bazillenaufschwemmung
2. 2 ccm „ „ 1 ccm „ „
3. 1 ccm „ „ 0,1 ccm „ „
4. 2 ccm „ „ 0,1 ccm „ „

Die Bazillenaufschwemmung wurde nach der von Blumenberg angegebenen Oxalat-Methode hergestellt. Eine von festen Küß-Nährböden stammende, abgewogene Bazillenmenge gelangte im Achatmörser unter tropfenweisen Zusatz von 1 ccm Natriumoxalat ca. 20 Minuten intensiv zur Verreibung. Das so verriebene Material wurde mit einer bestimmten Menge physiologischer Kochsalzlösung so aufgeschwemmt, daß 1 ccm der Flüssigkeit gerade 1 mg Tuberkelbazillen enthielte. Um noch etwaige Bazillenkonglomerate aus der Emulsion zu entfernen, wurde die Aufschwemmung noch leicht zentrifugiert. Ich erhielt so eine ziemlich homogene Bazillenaufschwemmung, in welcher wie mikroskopisch festgestellt wurde, die Tuberkelbazillen gleichmäßig verteilt waren. Zur Durchführung des Versuches wird die erwähnte Stammlösung nochmals so mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, daß in den Versuchsgruppen I und II ca 1/10 mg Bazillenmasse und in den Versuchsgruppen III und IV ca 1/100 mg in 1 ccm der Emulsion enthalten waren. Diese verschiedenen Konzentrationen wurden gewählt um 1. die Einwirkung des Serums auf verschiedene Bazillenmengen zu prüfen und 2. um das Serum selbst in möglichst unverdünntem Zustand einwirken zu lassen. Im Versuch wurden zwei verschieden virulente humane Tuberkelbazillenstämme verwandt. Stamm I, der bei Versuchsgruppe I und II zur Verwendung kam, stammt aus einer 3 Wochen alten Kultur. Er wurde aus einem Punktat gezüchtet. Im Tierversuch hat er sich als sehr virulent erwiesen.

Im Versuch III und IV wurde ein nur schwach virulenter humaner Stamm benutzt, der aus Material der hiesigen Ohren-

klinik stammte. Die Kultur war ebenfalls 3 Wochen alt.

Die Bazillen-Emulsionen wurden in den angegebenen Konzentrationen den einzelnen abgemessenen Serummengen zugesetzt, einigemale gut durchgeschüttelt und so für 24 Stunden im Brutschrank bei 37° Celsius aufbewahrt. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Serumbazillengemische 15 Minuten scharf zentrifugiert. Die über dem Zentrifugat stehende Flüssigkeit wurde nun vorsichtig und gleichmäßig abgegossen und der Bodensatz in Versuch I und II noch zwei mal mit jeweils 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen, damit möglichst alle Reste des Serums entfernt wurden, um eine etwaige Beeinflussung des Nährbodens späterhin auszuschalten. Im Versuch III und IV wurde dagegen die Auswaschung des Serums nur einmal vorgenommen.

Das Sediment wird danach wieder so mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, daß in 1 ccm 1/10 bzw. 1/100 mg Bazillenmenge enthalten waren. Von dieser Aufschwemmung wurden jeweils 3 Petragnaninährböden mit 0,1 ccm beimpft. Die Nährböden selbst stammten zur Ausschaltung etwaiger Schwankungen im Nährbodenmaterial aus der gleichen Kochung, sodaß angenommen werden konnte, daß sie alle von gleicher Beschaffenheit waren. Die Impfflüssigkeit wurde nun sorgfältig und gleichmäßig über den Nährböden verteilt und so lange schräg gelagert bis die Flüssigkeit eingezogen war. Das dauerte durchschnittlich 12 Stunden falls nicht zu viel Kondenswasser vorhanden war. Danach wurden sie im Brutschrank bei 37° Celsius bebrütet.

Tabelle 1

Stamm I — 1 ccm Serum + 0,1 mg Bazillen.

Seren	20. 3.	22. 3.	24. 3.	26. 3.	28. 3.
Kalb, normal	—	+	++	+++	++++
Pferde, normal	—	+	++	+++	++++
Hammel, normal	—	+	++	+++	++++
Schwein I normal	—	+	++	+++	++++
Tuberkul. Meerschweinchen 146 *	—	+	++	+++	++++
„ „ 114 ∅	—	+	++	+++	++++
„ „ RI ∅	—	+	++	+++	++++
Mensch, tuberkulös *	—	+	++	+++	++++
Kaninchen, tuberkulös ±	—	+	++	+++	++++
Tuberkul. Meerschweinchen RII ∅	—	+	++	+++	++++
Mensch, normal	—	+	++	+++	++++
„ „	—	+	++	+++	++++
„ „	—	+	++	+++	++++
„ „	—	+	++	+++	++++
Na Cl 1 ccm	—	+	++	+++	++++

Zeichenerklärung: (gültig für Tab. I, II, III und IV.)

* Nachweis von kompl. Antikörper nach der Methode von Witebsky-Kuhn-Klingenstein
E=Eigenhemmung
∅=keine komplementbindende Antikörper nachweisb.
± fragliche Antikörper
— kein Wachstum
\+ sehr schwaches Wachstum
++ schwaches Wachstum
+++ Starkes Wachstum
++++ sehr starkes Wachstum

Tabelle 2

Stamm I — 2 ccm Serum + 0,1 mg Bazillen

Seren	20.	22.	24.	26.	28.
Hammel, normal	—	+	++	+++	++++
Pferd, normal	—	+	++	+++	++++
Schwein, normal	—	+	++	+++	++++
Meerschweinchen tuberkul. 146 *	—	+	++	+++	++++
„ „ 114 ∅	—	+	++	+++	++++
Mensch, tuberkulös *	—	+	++	+++	++++
Meerschweinchen tuberkul. RI ∅	—	+	++	+++	++++
Kaninchen, tuberkulös ±	—	+	++	+++	++++
Na Cl 2 ccm	—	+	++	+++	++++

Zu jeder Versuchsreihe wurden Kochsalzkontrollen angesetzt, die völlig gleichsinnig wie die Hauptversuchsreihen behandelt wurden. Nach Ablauf von 10 Tagen wurden die Nährböden durch Paraffinieren hermetetisch verschlossen und täglich auf das erste Wachstum kontrolliert. Die einzelnen Daten wurden tabellarisch festgelegt.

Bei der Betrachtung der beigefügten Tabellen fällt in Versuchsgruppe III und IV auf, daß eine Reihe der Nährböden nicht bewachsen war. Hier ließ sich eine völlige oder zu mindest sehr starke Wachstumshemmung der Bazillen feststellen. Es ließ sich jedoch nachweisen, daß ausnahmslos in allen Fällen, wo diese Hemmung zustande gekommen war, gleichzeitig eine Verändrung des Nährsubstrats vorhanden war, die sich in einer völligen Gelbfärbung des normalerweise grünen Nährbodens kundtat. Innerhalb dieser Nährböden fanden sich noch grüne Inseln von unverändeter Beschaffenheit. Hierauf wuchsen die Bazillen genau so üppig wie bei den intakten Nährböden. Dieses könnte als Beweis dafür gelten, daß die nachweisbare Wachstumshemmung in einer chemischen Veränderung der Nährbodensubstanz zu suchen ist. Dafür spricht auch,

Tabelle 3.

Stamm II — 1 ccm Serum + 0,1 ccm ($^1/_{100}$ mg Baz.)

Seren	15.	17.	19.	21.	23.
Rind I normal	—	+	++	+++	++++
Rind II normal	+	+	++	+++	++++
Kalb II normal	Nährboden verändert! k. W.				
Kalb III normal	+	++	+++	+++	++++
Schwein II normal	Nährboden verändert! k. W.				
Schwein III normal	Nährboden verändert! k. W.				
Hammel II normal	—	—	+	+	(/)
Mensch I +	+	++	+++	+++	++++
Mensch II ∅	Nährboden verändert! k. W.				
Mehsch III ∅	—	—	+	+	(/)
Mensch IV +	Nährboden verändert! k. W.				
Na Cl 1 ccm	+	++	+++	+++	++++

(/) = Nährboden teilweise verändert, Wachstum unregelmäßig.
k. W. = kein Wachstum.
Zeichenerklärung gültig für Tab. 3 und 4.

Tabelle 4.

Stamm II 2 ccm Serum + 1 ccm ($^1/_{100}$ mg. Baz.)

Seren	15.	17.	19.	21.	23.
Rind I normal	—	+	++	+++	++++
Rind II normal	+	++	+++	+++	++++
Kalb II normal	k. W. Nährboden veränderr!				
Kalb III normal	„ „		„	„	
Scnwein II normal	„ „		„	„	
Schwein III normal	„ „		„	„	
Hammel II normal	+	++	++	+++	++++
Mensch I	+	+	++	+++	++++
Mensch II	k. W. Nährboden verändert!				
Mensch III	+	++	+++	+++	++++
Mensch IV	+	+	++	+++	++++
Na Cl 2 ccm	+	+	++	+++	++++

daß in anderen Versuchsreihen, wo derartige Veränderungen nicht beobachtet wurden eine Wachsttmshemmende Wirkung der betreffenden Seren nicht festgestellt werden konnte. Die Änderung der Nährbodenbeschaffenheit in Versuchsgruppe III und IV kann dadurch erklärt werden, daß noch Reste von Serum in der verimpften Bazillenaufschwemmung zurückgeblieben waren, da das Bazillen-Serumgemisch nur einmal mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen wurde. Diese Serumreste konnte man auch häufiger an der Verfärbung der Impfflüssigkeit erkennen. Jedoch hatte ich diesen immerhin nur geringen Resten eine so wesentliche Beeinflussung des Nährbodens nicht zugetraut. Beim Vergleich der unveränderten Nährböden mit den zugehörigen Kochsalzkontrollen ließ sich jedoch eine sichere Wachstumsverzögerung oder eine bakterizide Wirkung bei keinem der untersuchten Seren nachweisen, auch wenn diese komplementbindende Antikörper enthielten. Was man hier und dort in den beigefügten Tabellen als Hemmung ablesen könnte, kann seine Erklärung immer in kleinen Fehlerquellen innerhalb der Versuchsanordnung finden.

Zusammenfassung.

In verschiedenen Versuchsreihen wurden insgesamt 27 verschiedene Seren von gesunden und tuberkulösen Menschen und Tieren untersucht. Ein Teil dieser Seren enthielt komplementbindende Antikörper, die mit der Methode nach Witebsky-Kuhn-Klingenstein nachgewiesen wurden. Bei den Untersuchungen wurde der Nährbodenfrage besondere Bedeutung geschenkt, was sich auch im Verlauf der Versuche als begründet erwies.

Unter Ausschaltung aller Einflüsse zeigte sich, daß von einer hemmenden Wirkung der Seren gesunder und tuberkulöser Menschen und Tiere keine Rede sein kann.

Es ist anzunehmen, daß die von verschiedenen Autoren festgestellten Wachstumshemmungen der Seren auf Tuberkelbazillen auf Veränderungen innerhalb des Nährsubstrats zurückgeführt werden können, was um so wahrscheinlicher ist, als die Mehrzahl von ihnen das Serum, dessen Labilität in Bezug auf Konstanz des p^H-Faktors feststeht, den jeweiligen Nährböden zugesetzt wurde.

Auf Grund der erwähnten Versuche ist auch die humorale Theorie der Infektionsimmunität abzulehnen.

Schrifttum.

1. Meissner, Gertrud. Bakterizidie und entwicklungshemmende Wirkung des Blutes auf Tuberkelbazillen. Zentralblatt für Bakteriologie 1928 Bd. 105 S. 210.
2. Sonak, Melarum Die Beziehung zwischen entwicklungshemmenden Stoffen für Tuberkelbazillen und der Tuberkulinallergie. Zentralblatt für Bakteriologie 1930 Bd. 115, S. 173.
3. Courmont, Paul et Henri Gardère. Variations du pouvoir bactericide sur le Bacille de Koch du serum sanguin. (Verschiedenheiten des bakteriziden Vermögens des Blutserums gegenüber dem Koch'schen Bazillus.) Bull. Acad. Med. Paris 101. 767—772. 1929.
4. Yabushita, M. Über die bakterizide Wirkung des Blutes avitaminotisch ernährter Tiere gegenüber Tuberkelbazillen. Zentralblatt f. d. ges. Tuberkuloseforschung. Referat 1937 Bd. 45 S. 684.
5. Angelesia, Referat Zentralblatt d. Tuberkuloseforschung Bd. 34 S. 450 1931.
6. Hedval Referat Zentralblatt d. Tuberkuloseforschung Bd. 43. S. 724 1936.
7. Courmont, Paul et Henri Gardère. Valeur pronosique du serum dans la tuberkulose poulmonaire. (Der prognostische Wert der bakteriziden Kraft des Blutserums in der Lungentuberkulose.) Bull. Acad. Med. Paris III. 116 1936. Referat Zentralblatt f. d. ges. Tuberkuloseforschung 1937 Bd. 45 S. 698.
8. Courmont, Paul et Gardère C. r. Soc. Biol. Paris 105, 8 1930.
9. Kuteischikow, W. A. Zur Gewinnung und experimentellen Prüfung eines antituberkulösen Serums. Zeitschrift für Immunitätsforschung 1930 Bd. 66 S. 261.
10. Pagel, W. Die bakterizide Kraft des Blutserums zur Unterscheidung einer bestimmten Form von Lungentuberkulose. Tubercle 26. Nr. 6 1935. Referat: Zeitschrift für Tuberkulose Bd. 73 S. 46.
11. Kirchner O. Besitzen Tuberkulose und Nichttuberkulosesera ein bakterizides Vermögen gegen den Tuberkelbazillus? Zeitschrift für Immunitätsforschung Bd. 76 S. 56.
12. Wolf, L. K. Über Hemmung von Bakterienwachstum im Menschenserum. Zeitschrift für Immunitätsforschung 1928 Bd. 56. S. 279.

13. Bericht über die Tätigkeit des Institutes „Robert Koch“ in Berlin. Zeit: 1. 4. 1937 bis 31. 3. 1938.
14. Nagel und Fenkner erscheint im Zentralblatt für Bakteriologie.
15. Wurm, Koppenhöfer, Henke, Hübschmann, Pfaff, Herold zitieren nach Nagel und Fenkner.
16. Pichet und Hericourt zietiert nach Kuteischikow.

Lebenslauf.

Am 27. 5. 1908 in Halberstadt geboren, kam ich durch Versetzung meines Vaters im Herbst 1911 nach Iserlohn, besuchte dort die Grundschule, ging von dort zur Oberrealschule über und legte 1928 daselbst die Reifeprüfung ab. Nach einem Studium von 8 Semestern bestand ich an genannter Universität im Jahre 1932 mein Staatsexamen.

Seit dieser Zeit bin ich in Iserlohn als selbständiger Zahnarzt tätig.